

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1925

THÈSE

82

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE
(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

HENRI D'HOUE

*Ancien Externe des Hôpitaux de Paris
Interne de l'Hôpital de l'Institut Pasteur*

Né à LILLE (Nord), le 23 Janvier 1897

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

de

LA VACCINATION ANTIDIPHTÉRIQUE

par l'Anatoxine

Président : M. Léon BERNARD, Professeur



LILLE
IMPRIMERIE DOURIEZ-BATAILLE
140, RUE NATIONALE, 140

1925

82

THÈSE

pour

LE DOCTORAT EN MÉDECINE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551626_0089

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1925

THÈSE

N°.....

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE (DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

HENRI D'HOUR

*Ancien Externe des Hôpitaux de Paris
Interne de l'Hôpital de l'Institut Pasteur*

Né à LILLE (Nord), le 23 Janvier 1897

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE de **LA VACCINATION ANTIDIPHTÉRIQUE** par l'Anatoxine

Président : M. Léon BERNARD, Professeur



LILLE
IMPRIMERIE DOURIEZ-BATAILLE
140, RUE NATIONALE, 140

1925

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	NICOLAS.
Anatomie médico-chirurgicale.....	CUNÉO.
Physiologie	Ch. RICHET.
Physique médicale.....	André BROCA.
Chimie organique et chimie générale.....	DESGREZ.
Bactériologie	BEZANÇON.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.....	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales.....	Marcel LABBÉ.
Pathologie médicale	SICARD.
Pathologie chirurgicale.....	LECÈNE.
Anatomie pathologique.....	LETULLE.
Histologie	PRENANT.
Pharmacologie et matière médicale.....	RICHAUD.
Thérapeutique	CARNOT.
Hygiène	Léon BERNARD.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	MÉNÉTRIÉR.
Pathologie expérimentale et comparée.....	ROGER.
Clinique médicale	GILBERT.
	CHAUFFARD.
	ACHARD.
	WIDAL.
	MARFAN.
	NOBÉCOURT.
Hygiène et clinique de la première enfance.....	
Clinique des maladies des enfants.....	
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques....	JEANSELME.
Clinique des maladies du système nerveux.....	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses.....	TEISSIER.
	DELBET.
Clinique chirurgicale.....	HARTMANN.
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique.....	De LAPERSONNE.
Clinique urologique.....	LEGUEU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements.....	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique.....	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	BROCA Auguste.
Clinique thérapeutique médicale.....	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique.....	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	DUVAL.
Clinique propédeutique.....	SERGENT.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	MM.
ABRAMI Pathologie médicale.	LABBÉ (Henri). Chimie biologique.
ALGLAVE Pathologie chirurgi- cale.	LARDENNOIS .. Pathologie chirurgi- cale.
AUBERTIN Pathologie médicale.	LE LORIER..... Obstétrique.
BASSET Pathologie chirurgi- cale.	LEMAITRE Oto-rhino-laryngolo- gie.
BAUDOUIN Pathologie médicale.	LEMIERRE Pathologie médicale.
BINET Physiologie.	LÉVY-SOLAL... Obstétrique.
BLANCHETIÈRE. Chimie biologique.	LHERMITTE... Pathologie mentale.
BRANCA Histologie.	LIAN Pathologie médicale.
BRULÉ Pathologie médicale.	MATHIEU Pathologie chirurgi- cale.
BUSQUET Pharmacologie et ma- tière médicale.	METZGER Obstétrique.
CADENAT Pathologie chirurgi- cale.	MOCQUOT Pathologie chirurgi- cale.
CHAMPY Histologie.	MONDOR Pathologie chirurgi- cale.
CHIRAY Pathologie médicale	MOURE Pathologie chirurgi- cale.
CLERC Pathologie médicale.	MULON Histologie.
DEBRÉ Hygiène.	PHILIBERT Bactériologie.
I. de JONG..... Anatomie pathologi- que.	RIBIERRE Pathologie médicale.
DUVOIR Médecine légale.	RICHET Fils..... Physiologie.
ÉCALLE Obstétrique.	ROUVIÈRE Anatomie.
FIESSINGER ... Pathologie médicale.	STROHL Physique médicale.
FOIX Pathologie médicale.	TANON Pathologie médicale.
GARNIER Pathologie expérimentale.	TIFFENEAU Pharmacologie et ma- tière médicale.
HARVIER Pathologie médicale.	VAUDESCAL ... Obstétrique.
HEITZ-BOYER .. Urologie.	VERNE Histologie.
HOVELACQUE .. Anatomie.	VILLARET Pathologie médicale.
JOYEUX Parasitologie.	WELTER Ophtalmologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	MM.
CAMUS Physiologie.	RETTERER Histologie.
GOUGEROT Pathologie médicale.	ROUSSY Anatomie pathologi- que.
GUÉNIOT Obstétrique.	

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.		MM.	
AUVRAY	Clinique chirurgicale.	OMBRÉDANNE .	Clinique chirurgicale infantile.
CHEVASSU	Clinique chirurgicale.	PROUST	Clinique chirurgicale.
LAIGNEL-LAVASTINE	Clinique médicale.	RATHERY	Clinique médicale.
LEREBoullet..	Clinique médicale in- fantile.	SCHWARTZ	Clinique chirurgicale.
LÉRI	Clinique médicale.	TERRIEN	Clinique ophtalmolo- gique.
LÉPER	Clinique médicale.		

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, agrégé....	{	Chargé du cours de chirurgie orthopédi- que chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infir- mes adultes.
FREY		Stomatologie.
N... ..		Education physique.
LEDOUX-LEBARD		Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 Décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

LE DOCTEUR LOUIS D'HOUR

A MA MÈRE

A MA SŒUR

A MA FIANCÉE

MEIS ET AMICIS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR LÉON BERNARD
PROFESSEUR D'HYGIÈNE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
MÉDECIN DE L'HOPITAL LAENNEC
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR

Qu'il trouve l'expression de notre respectueuse reconnaissance pour le grand honneur qu'il nous fait en acceptant la présidence de notre thèse.

A MONSIEUR LE DOCTEUR LOUIS MARTIN
SOUS-DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR

Hommage de notre respectueuse et profonde reconnaissance pour son enseignement de l'Institut et de l'Hôpital Pasteur, ainsi que pour ses précieux et bienveillants conseils.

A MONSIEUR LE DOCTEUR DELEZENNE

PROFESSEUR A L'INSTITUT PASTEUR

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

En témoignage d'affectueuse reconnaissance.

—

A MONSIEUR LE DOCTEUR VEILLON

MÉDECIN DE L'HOPITAL PASTEUR

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

Que notre Maître trouve ici l'expression de notre profond respect et de toute notre gratitude.

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

EXTERNAT :

M. LE PROFESSEUR GOSSET (*Hospice de la Salpêtrière*)

M. LE DOCTEUR BENSAUDE (*Hôpital Saint-Antoine*)

M. LE DOCTEUR LORTAT-JACOB (*Hôpital Saint-Louis*)

M. LE PROFESSEUR LÉON BERNARD (*Hôpital Laënnec*)

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ CLERC (*Hôpital Lariboisière*)

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ DEBRÉ

M. LE DOCTEUR BERNARD DESPLAS

A MES MAITRES DE L'INSTITUT ET DE L'HOPITAL PASTEUR

M. LE DOCTEUR CALMETTE,

M. LE DOCTEUR MARTIN,

M. LE DOCTEUR VEILLON,

M. LE DOCTEUR DARRÉ,

M. LE DOCTEUR-ABBÉ MAUMUS,

M. LE DOCTEUR SALIMBENI,

M. LE DOCTEUR PETTIT,

M. LE DOCTEUR LOISEAU,

M. LE DOCTEUR DUJARRIC DE LA RIVIÈRE,

M. LE DOCTEUR REILLY.

Monsieur G. RAMON.

A MES CAMARADES DE L'HOPITAL PASTEUR

MM. LES DOCTEURS A. COMPAGNON, A. LAFFAILLE,

H. LORION, R. MARTIN, G. MONDET, J. DE LA

MORINIÈRE.

Monsieur R. VEILLON.

A Monsieur Ed. TENDRON,

CHEF DE SERVICE A L'INSTITUT PASTEUR.

INTRODUCTION

Après avoir résumé les différentes tentatives faites jusqu'à ce jour pour réaliser la vaccination antidiphtérique chez l'homme, nous étudierons plus longuement les méthodes de vaccination, dont les résultats semblaient permettre, au début, des espoirs qui ne se réalisèrent pas complètement (mélanges toxine-antitoxine, hyperneutralisés, hyponeutralisés ou neutres, toxine diluée).

La critique de ces procédés nous conduira à l'étude d'un produit nouveau : l'*anatoxine diphtérique*. Après avoir rappelé les idées qui ont présidé à sa découverte et étudié sa préparation et le contrôle de ses propriétés, nous relaterons les observations concernant son emploi dans la vaccination antidiphtérique de l'homme ; nous montrerons les résultats et les avantages de cette méthode de vaccination, son emploi dans la prophylaxie antidiphtérique et enfin ses indications et sa technique.

Remarquons dès maintenant combien la vaccination antidiphtérique est facilitée par deux méthodes de contrôle de l'immunité :

La méthode de RÔMER (1909), permettant de doser le pouvoir antitoxique du sérum des sujets, méthode quantitative (1).

(1) La méthode de Rômer permet de titrer le pouvoir antitoxique du sérum humain par injection intradermique chez le cobaye d'un mélange d'une toxine (titrée vis-à-vis d'un sérum étalon) et du sérum du sujet.

La réaction de SCHICK (1913), qui permet de distinguer les sujets réceptifs à la diphtérie (réaction de SCHICK positive), des sujets réfractaires (réaction de SCHICK négative). Cette dernière, méthode qualitative, a facilité le contrôle des vaccinations ; elle est en effet beaucoup plus maniable que la méthode de RÖMER, quoique moins précise. Il est admis actuellement que, dans la plus grande majorité des cas, une réaction de SCHICK négative est un test suffisant d'immunité antidiphtérique (1).

(1) L'épreuve de Schick consiste dans l'injection intradermique chez l'homme (sous le volume de un dixième de centimètre cube) d'une dilution de toxine diphtérique dont ce dixième de centimètre cube correspond au cinquantième de la dose mortelle pour un cobaye de 250 grammes.

HISTORIQUE

Dans toute étude concernant la diphtérie, quelques grandes étapes de l'histoire de cette maladie sont à rappeler.

En 1883, KLEBS découvre dans les fausses membranes diphtériques un bacille qu'il affirme être la seule cause de la diphtérie, mais ses recherches seraient restées infécondes sans celles de LOEFFLER. Ce dernier en 1884 isole le bacille vu par KLEBS, le cultive à l'état de pureté, l'inocule aux animaux, mais, trouvant le même bacille dans la bouche de sujets sains, il ne peut démontrer ni la virulence de ce bacille, ni sa spécificité.

ROUX et YERSIN en 1887, établissent la spécificité du bacille diphtérique, découvrent sa toxine et reproduisent chez les animaux les paralysies diphtériques.

En 1890, Karl FRAENKEL, chauffant la toxine à 65°-70° l'injecte aux animaux et les immunise.

BEHRING et KITASATO découvrent en 1890 l'antitoxine dans le sérum des chevaux immunisés.

En 1894, au Congrès de Buda-Pest, Roux, dans une remarquable communication portant sur 300 cas de diphtérie, qu'il avait traités en collaboration avec L. MARTIN et CHAILLOU, apportait la preuve indiscutable de la valeur thérapeutique du sérum antidiph'térique.

La guérison de la maladie était réalisée, la prévention immédiate était assurée, mais on restait dans le domaine

de l'immunité passive. Les expérimentateurs ont toujours voulu dépasser ce stade et réaliser une méthode d'immunisation active par la vaccination : nous relaterons leurs nombreuses tentatives que rendait nécessaires la difficulté de cette immunisation active de l'homme.

Dès 1902, DZIERZGOWSKY, voulant s'assurer que l'on ne risque pas de tuer l'homme en lui injectant de la toxine diphtérique s'inocula en trois mois en 24 injections, 4.300 doses mortelles pour le cobaye, il voit monter l'antitoxine de son sérum jusqu'à une unité par centimètre cube (d'après BEHRING). En dernier lieu il s'injecte en une seule fois 1.700 doses mortelles pour le cobaye.

Plus tard, le même expérimentateur en introduisant dans les fosses nasales des sujets des tampons imbibés de toxine, montra qu'il se développait dans leur sang des quantités appréciables d'antitoxine, expérience que BLUEMENEAU confirma en 1911.

Un an plus tard, encouragé par l'auto-expérimentation de DZIERZGOWSKI, BOLDIREFF commence sa propre immunisation par des doses extrêmement faibles de toxine 1/10.000 de la dose minima mortelle pour le cobaye ; il s'injecte en 36 injections cinq doses mortelles pour le cobaye.

A la fin de l'expérience, le pouvoir antitoxique de son sérum était, d'après BEHRING, de 0,4 unité par centimètre cube.

Dès 1905, PARK applique de façon définitive la méthode des injections toxine-antitoxine, à gros excès d'antitoxine, aux chevaux destinés à fournir le sérum antidiphtérique.

Théobald SMITH en 1903, fut le premier à conseiller l'immunisation de l'homme. Il a étudié dans des expériences sur le cobaye, l'effet des mélanges toxine-antitoxine neutres et celui des mélanges hyper ou hypo-

neutralisés. Comme moyen de contrôle de l'immunité acquise, il a injecté des cobayes gravides et a étudié l'immunité des petits. Lorsqu'il injecte à la femelle un sérum antidiphtérique, les petits ne présentent aucune immunité. Par une immunisation active bien réussie, il obtient une immunité des nouveaux-nés ; les petits des femelles inoculées naissent en état d'immunisation. Celle-ci d'ailleurs se perd en trois mois.

En 1911, SÜDMERSEN et A. T. GLENNY étudient la transmission de l'immunité chez le cobaye : le mélange toxine-antitoxine confère au cobaye une immunité plus forte que les petites doses de toxine seule, les petits gardent l'immunité pendant deux mois après la naissance.

En 1912, CLINTOCK et FERRY en injectant à des chevaux un mélange neutre de toxine diphtérique et de sérum ont constaté l'inocuité de ces injections et l'apparition précoce (32 jours), du pouvoir antitoxique (250 unités).

PETRUSCHKY en 1912, conseille la vaccination par des frictions de pommade contenant des bacilles diphtériques tués.

En 1913 est faite la première communication sur l'immunisation par le mélange toxine-antitoxine de BEHRING au Congrès international de médecine de Wiesbaden.

BEHRING annonce la découverte d'un vaccin antidiphtérique nouveau, dont il n'indique pas la préparation. Ses collaborateurs SCHREIBER et ZANGEMEISTER font les essais, le premier chez 40 personnes à l'hôpital de Magdebourg-Sudenbourg, le second chez les femmes enceintes et des enfants.

Les résultats que nous présenterons ultérieurement furent très variables, suivant les auteurs, durant les années qui suivirent.

En Amérique, W. PARK et ses collaborateurs ZINGER

et SEROTA, emploient dans leurs essais de vaccination un mélange de toxine-antitoxine très légèrement hyponeutralisé. Grâce à la réaction que le Viennois SCHICK venait de décrire en 1913 (diphthérino-réaction), les auteurs américains ne vaccinent que les sujets réceptifs à la diphtérie et contrôlent facilement les résultats de leurs vaccinations.

Les tentatives d'immunisation se multiplièrent d'abord en Amérique, les nations européennes ayant à concentrer leur activité sur des problèmes plus immédiats.

La vaccination antidiphthérique fut ensuite tentée dans de nombreux pays.

En Hollande GÜSTER et TEN BOKKEL obtiennent des résultats avec la méthode de BEHRING. ALDERSHOFF en est également un partisan convaincu.

HENSEVAL se sert, en Belgique, d'un vaccin préparé suivant les méthodes américaines.

En République Argentine, BACHMANN et LA BARRERA emploient un mélange légèrement hypertoxyque.

Aux Etats-Unis Julius BLUM utilise dès 1920 des mélanges neutres ainsi que BIEBER en Allemagne.

En 1921, LÖWENSTEIN essaie à Vienne des mélanges hyperneutralisés.

En France, Jules RENAUT et P. P. LÉVY obtiennent de bons résultats avec un mélange toxine-antitoxine fortement hyperneutralisé.

Depuis 1921, RÖHMER et R. LÉVY à Strasbourg ont utilisé presque toujours les vaccins de BEHRING.

VACCINATION PAR LES MÉLANGES TOXINE-ANTITOXINE

MÉTHODE DE BEHRING

L'immunisation active contre la diphtérie résulte de la production d'une quantité suffisante d'antitoxine dans le sang du sujet ; elle s'obtient en injectant de la toxine diphtérique plus ou moins neutralisée par de l'antitoxine, de façon à la rendre inoffensive. Cette méthode destinée à provoquer la formation d'antitoxine dans un organisme au moyen d'un mélange toxine-antitoxine, trouvait depuis longtemps son application dans l'immunisation des animaux producteurs de sérums thérapeutiques : c'est la base du procédé de PARK qui permet d'obtenir un sérum doué d'un pouvoir antitoxique élevé.

Théobald SMITH, ayant immunisé des cobayes au moyen d'un mélange toxine-antitoxine, s'était rendu compte des avantages d'une telle méthode pour amener la formation d'antitoxine chez l'homme. Mais c'est BEHRING qui le premier devait tenter l'immunisation antidiphtérique. A cet effet, il réalisa des mélanges toxine-antitoxine qu'il désigna par des initiales : MMI et MI à M. VI. MMI était un mélange tout à fait inoffensif pour le cobaye, dans lequel la toxine était complètement neutralisée. MI était le mélange le plus actif : 1 centimètre cube étant la dose

mortelle minima pour un cobaye de 250 grammes. Les autres mélanges MII à M. VI constituaient les intermédiaires entre ces deux extrêmes.

Les injections étaient faites à doses minimales par voie intradermique, sous-cutanée, intramusculaire, (la voie intradermique donnant à dose égale des résultats meilleurs que ceux obtenus par voie sous-cutanée), le mélange le plus actif M. I étant toujours dilué avant son emploi. Par les premières injections (doses probatoires), on tâta la sensibilité des sujets, ce qui permettait d'établir les doses ultérieures nécessaires à la vaccination, (dose sensibilisante --- dose immunisante).

A partir de 1913, BEHRING et ses collaborateurs publient les résultats de leurs essais de vaccination.

Éliminons tout d'abord la production d'antitoxine, il est incontestable que l'augmentation du pouvoir antitoxique du sérum était manifeste mais elle ne se produisait guère que du 23^e au 27^e jour de la vaccination, pouvant atteindre de 10 à 75 unités par centimètre cube (HAHN) mais souvent les titrages n'ont pas été rigoureusement poursuivis et de plus BEHRING et ses collaborateurs vaccinant tout le monde ne tenaient pas compte de l'antitoxine qui pouvait exister dans le sang de leurs sujets et n'amenaient ainsi qu'une augmentation d'antitoxine au lieu d'une production.

En 1914, BEHRING rend compte de 1.000 inoculations faites sous sa direction et de 2.000 qui ne purent être suivies avec autant de soin. KISSLING relate 310 essais d'immunisation avec 8 cas de diphtérie survenant dans la suite chez les inoculés dont trois pendant les 9 premiers jours de la vaccination. HAHN et SOMMER au cours de cinq épidémies et d'une endémie ont inoculé 633 enfants. Parmi 285 d'entre eux, complètement immunisés,

ayant reçu toutes les doses requises par les auteurs, un seul cas de diphtérie fut observé alors que parmi les 378 autres enfants trois cas de diphtérie éclatèrent. Publiant les résultats obtenus par HAHN et SOMMER depuis 1913, BIEBER constate que 4,6 % des 1.097 enfants inoculés par ces auteurs contractèrent la diphtérie ; plusieurs sujets n'avaient reçu qu'une injection ; le pourcentage des cas d'infection chez les enfants ayant reçu deux injections est de 3,3. Dans le même laps de temps la morbidité diphtérique chez les enfants non vaccinés a été de 15 %.

En Hollande, en 1920, GÖRTER et TEN BOKKEL publient les résultats d'une vaccination par le vaccin de BEHRING (T. A. VII) (1). Sur les 271 enfants de 6 à 12 ans, à réaction de SCHICK positive, qu'ils ont vaccinés, ils ont constaté qu'après la vaccination la réaction est restée positive chez 40 enfants, douteuse chez 49, et qu'elle est devenue négative chez 138 enfants. Ils ont remarqué que l'antitoxine ne commence à apparaître qu'après trois semaines et qu'elle disparaît après un an et demi ou deux ans.

A Strasbourg ROMER et R. LÉVY (1921), se sont servis du vaccin de BEHRING, en ont contrôlé les effets par le titrage habituel de l'antitoxine apparue dans le sérum des sujets vaccinés. Opérant sur des nourrissons, ils constatent une augmentation du pouvoir antitoxique dans 15 des cas avant le quatrième mois, dans 40 % des cas au quatrième mois. Au delà du cinquième mois cette augmentation se manifestait dans 82,6 % des cas.

Ainsi donc, cette méthode paraissait devoir donner de bons résultats mais la pratique de cette vaccination était remplie de difficultés.

(1) Nous ferons remarquer que BEHRING avait entre-temps modifié la composition de son mélange T. A.

Le médecin qui voulait vacciner devait posséder une instruction spéciale très étendue et demander une autorisation en règle à BEHRING lui-même ; et, avant d'effectuer la vaccination proprement dite, il lui fallait pratiquer chez chaque sujet toute une série d'injections probatoires qui lui permettait de connaître la dose définitive de vaccin à employer ; tout cela était compliqué et non sans danger. Aussi malgré les efforts de BEHRING et de ses collaborateurs, les essais de cette méthode de vaccination ne tendirent pas à se généraliser d'autant plus que des modifications furent apportées au vaccin de BEHRING que l'on rendit successivement strictement neutre, légèrement toxique, puis très légèrement antitoxique, s'éloignant ainsi de la technique primitive.

MÉTHODE AMÉRICAINE.

BEHRING et ses collaborateurs n'avaient au début de leurs essais de vaccination, que la seule méthode de RÖMER, pour doser l'antitoxine dans le sérum des sujets vaccinés. Cette dépendance de l'appréciation de l'immunisation antidiphthérique de procédés de laboratoire délicats pouvait être une source de complications de lenteur et aussi d'imprécision dans l'interprétation des résultats. La description par SCHICK en 1913, de la diphtérino-réaction, mettait à la portée du médecin un moyen clinique extrêmement simple et fidèle pour reconnaître l'état d'immunisation ou de réceptivité à la diphtérie. On pouvait désormais contrôler plus facilement les résultats d'une vaccination par la transformation d'un SCHICK positif en SCHICK négatif. PARK et ZINGHER saisirent la valeur pratique de ce nouveau procédé d'interprétation, et ne tardèrent pas à l'appliquer pour contrôler les effets immunisants du mélange vaccinal toxine-antitoxine hyponeutralisé qu'ils venaient de préparer. BEHRING ayant tenu secrète la composition de ses mélanges, les Américains PARK, ZINGHER et SEROTA durent essayer différents mélanges de toxine-antitoxine. Avec l'un d'eux ils pratiquèrent leurs premiers essais, en 1914 sur 68 scarlatineux.

Le titrage du sérum de ces malades montra que 44 d'entre eux possédaient une certaine quantité d'antitoxine. Parmi les 24 sujets dont le sang était dépourvu d'antitoxine, six seulement parvinrent à en élaborer. Parmi les 18 restants cinq contractèrent la diphtérie.

Chez les 44 sujets dont le sang contenait auparavant de l'antitoxine le pouvoir antitoxique du sérum augmenta notablement en une semaine.

Dans la suite PARK et ZINGHER s'appliquèrent à n'immuniser que les individus dont le sang était dépourvu de pouvoir antitoxique. Le témoin de l'immunité fut pour ces auteurs la réaction de SCHICK. L'immunité était obtenue quand l'injection de mélange toxine-antitoxine avait transformé une réaction de SCHICK positive en une réaction négative.

Après de nombreux essais sur lesquels nous ne nous étendrons pas, PARK et ses collaborateurs s'arrêtèrent à un mélange de toxine-antitoxine très légèrement hypo-neutralisé. La toxine doit être très active mais stabilisée par séjour prolongé à la glacière (12 à 13 mois). L'antitoxine du mélange vaccinant est un sérum diphtérique concentré, qui contient de 12 à 1500 unités antitoxiques par centimètre cube. (Une unité antitoxique de sérum étant capable de neutraliser 100 unités toxiques de toxine diphtérique). Les proportions du mélange doivent être telles qu'une dose $L +$ de toxine corresponde à peu près à une unité antitoxique. PARK insiste sur la nécessité de s'assurer de l'innocuité du mélange (1). Mais pour obtenir ce mélange légèrement hypo-neutralisé des essais délicats sont nécessaires.

PARK et ZINGHER pratiquent trois injections sous-cutanées de 1 centimètre cube du mélange à une semaine d'intervalle. Les réactions ne consistent en général qu'en

(1) L'innocuité du mélange est constatée par injection sous-cutanée au cobaye. A la dose de 1 cc. il ne doit déterminer qu'une induration locale légère — 5 cc. provoquent une induration plus marquée s'accompagnant de paralysie, mais le cobaye ne meurt pas. La mort du cobaye avant le 5^{me} jour indique un excès de toxine et rend le mélange inutilisable.

une rougeur et une sensation douloureuse au point d'inoculation, phénomènes disparaissant au bout de 24 à 48 heures.

Quels sont les résultats de cette vaccination ? Les injections produisent chez 85 % d'enfants ou d'adultes réceptifs suffisamment d'Antitoxine pour transformer un SCHICK positif en SCHICK négatif. Le chiffre de 85 % est donné par PARK en 1922 et confirmé par SCHROEDER qui vaccina 50.000 enfants des Ecoles de Brooklyn, où il obtient en un an 80 à 85 % d'enfants vaccinés. SILBURY en obtient 70 à 80 %. BLAU : 80 %. BYARD dans sa clientèle privée vaccina des enfants et obtint l'immunité chez 96,2 % vaccinés. Julius BLUM vaccina 252 enfants dans un collège et obtint en trois à quatre mois 77 % de sujets vaccinés.

En 1923, BACHMANN et LA BARRERA à Buénos-Aires, avec des mélanges hyponeutralisés constatèrent une augmentation rapide de l'antitoxine des vaccinés, mais leurs observations sont peu nombreuses.

En général le développement de l'immunité est lent (entre un à six mois après la dernière injection).

MÉLANGES HYPERNEUTRALISÉS

Pour supprimer les inconvénients des mélanges, à la limite de la toxicité, LÖWENSTEIN établit, dès 1921, un mélange toxine-antitoxine à notable excès d'antitoxine. KASSOWITZ, à Vienne, injecte ce mélange à des enfants qui 4 à 8 semaines après, sont éprouvés par la réaction de Schick et il publie les résultats obtenus :

Ayant injecté dans la peau de 40 enfants, 0 centimètre cube 1 du mélange de LÖWENSTEIN, KASSOWITZ constate que 26 enfants sont immunisés au bout de 4 semaines ; après 8 semaines, 33 sont immunisés (82 %), augmentant la dose, KASSOWITZ constate que sur 24 enfants ayant reçu 0 centimètre cube 2, 22 sont immunisés soit 92 %, (cette vaccination s'accompagnait de réactions locales assez marquées). Enfin, en injectant dans les muscles la dose de 0 centimètre cube 1, il constate que 20 enfants sur 23 (87 %) acquièrent l'immunité en 24 jours.

En France, au lendemain de la guerre, MM. RENAULT et P.-P. LÉVY étudient la vaccination diphtérique en se servant de la réaction de Schick comme test d'immunisation .

En 1922, ils présentent à l'Académie de Médecine les résultats de leurs essais poursuivis depuis quinze mois.

S'inspirant des travaux étrangers et particulièrement de ceux de PARK et ZINGHER, ils ont cherché une méthode de vaccination plus simple que celle des Américains et qui donne la même immunité tout en assurant une plus grande innocuité.

RENAULT et P.-P. LÉVY se servent, pour préparer leur vaccin T. A., d'une toxine diphtérique préparée à l'Institut Pasteur et stabilisée par un long séjour à la glacière ; l'antitoxine est fournie par le sérum antidiphtérique.

Par suite de l'excès d'antitoxine, un étalonnage rigoureux et de multiples essais sur les cobayes ne sont plus nécessaires comme dans les vaccins à la limite de neutralisation.

Les réactions post-vaccinales furent toutes bénignes. Elévation de la température légère et passagère, rougeur locale, rarement vomissements.

Les résultats furent contrôlés par la réaction de Schick. (Les auteurs n'ont inoculé leur vaccin qu'à des sujets à Schick positif.)

Dès l'injection, la réaction de Schick devient négative, conséquence de l'excès notable d'antitoxine dans le mélange. Elle reste négative pendant huit à quinze jours, puis durant les semaines suivantes elle redevient positive. Vers le deuxième ou troisième mois, elle peut redevenir négative, mais c'est surtout à partir du quatrième mois que l'on observe ce changement important, témoin d'une immunisation qui reste fixe. Il faut donc compter trois à six mois pour obtenir l'état réfractaire.

Voici les conclusions que Jules RENAULT et P.-P. LÉVY tirent de leurs observations portant sur 306 vaccinations : Innocuité du procédé. Immunité durable. Immunité obtenue avec 3 injections dans 80 à 90 % des cas ; avec deux injections dans 66 % des cas, avec une seule dans 40 %.

On peut reprocher à ce procédé de vaccination la néces-

sité de la préparation extemporanée du mélange par le médecin qui vaccine, le long espace de temps nécessaire à la production de l'immunité (2 à 6 mois).

*
**

MÉLANGES NEUTRALISÉS

Notons en passant, que de nombreux auteurs, Julius BLUM aux Etats-Unis, BIEBER en Allemagne, ROHMER et René LÉVY en France employèrent dans leurs essais d'immunisation antidiphthérique des mélanges toxine-antitoxine exactement neutralisés. Les résultats communiqués par ces différents auteurs ne nous semblent pas avoir fait faire un bien grand progrès à la question de l'immunisation antidiphthérique et en ce qui les concerne, ROHMER et LÉVY déclarent ne pas avoir obtenu de résultats supérieurs à ceux que leur avait donnés la méthode de Behring.

*
**

VACCINATION PAR LA TOXINE DILUÉE

Nous n'insisterons pas sur les tentatives de vaccination pratiquées avec la toxine diluée (BOLDIREFF, BAUER, BIEBER, OPITZ), qui n'ont jamais donné que des résultats très inférieurs à ceux obtenus par les différents mélanges toxine-antitoxine et qui se compliquaient des questions de sensibilité individuelle rendant fort délicat l'emploi de cette méthode.

INCONVÉNIENTS DES MÉTHODES DE VACCINATION PAR LES MÉLANGES TOXINE-ANTITOXINE

Si nous nous en tenons au simple fait brutal de l'apparition de l'immunité, les diverses méthodes de vaccination antidiphtérique que nous venons de passer en revue mériteraient d'être acceptées et d'entrer dans la pratique courante. Mais, comme le lecteur a pu s'en rendre compte au cours de notre revue des différents procédés, nous n'avons pas manqué de faire remarquer certaines imperfections qui, à notre avis, rendent bien difficile l'acceptation de ces méthodes.

En effet, à leurs difficultés techniques peuvent s'ajouter des risques pour les sujets soumis à la vaccination et, d'ailleurs, tous les sujets ne sont pas assurés d'être immunisés.

Les *difficultés techniques* sont évidentes et si la méthode de BEHRING paraît être la plus délicate à appliquer, les autres méthodes sont encore bien compliquées. La nécessité d'opérer pour certaines d'entre elles avec des mélanges à préparation le plus souvent extemporanée oblige le médecin vaccinateur à posséder une culture spéciale que l'on ne saurait exiger de tous les praticiens. Si l'on veut réellement lutter avec efficacité contre la diphtérie, il est indispensable de fournir aux vaccinateurs un matériel facile à manier et ne nécessitant pas d'opérations préliminaires tant chez l'animal que chez l'individu à vacciner ; ces opérations facilement réalisables dans un hôpital, avec un laboratoire bien organisé ou dans de grandes collecti-

vités possédant une organisation médicale disciplinée (comme en ont certains centres américains) deviennent irréalisables pour le médecin isolé, ce qui est le cas le plus fréquent dans notre pays. Ces méthodes donc, par la complexité de leur technique ne pourraient pas être généralisées.

Mais, à côté de ces difficultés d'ordre technique, ces méthodes, à l'exception de celles employant des mélanges hyperneutralisés, peuvent être *dangereuses*. Et nous devons nous demander si, malgré toutes les précautions dont on s'entoure, on a le droit de risquer des accidents pouvant mettre en danger la vie des sujets. En effet, on sait que quelques-uns de ces mélanges vaccinaux peuvent, à un certain moment, devenir dangereux, soit par suite d'erreurs dans leur préparation, soit, danger plus grave, parce qu'ils sont instables et peuvent, dans certains cas, se dissocier facilement (1), libérant la toxine qui, injectée dans l'organisme, déterminera des désordres graves ; qu'il nous soit seulement permis de rappeler la triste expérience de DALLAS (Texas) qui, employant un mélange toxine-antitoxine, eut 40 réactions graves avec 5 décès déterminés par un excès de toxine du mélange.

Enfin, nous avons vu combien était longue à se constituer l'immunité : 5 à 6 mois en moyenne sont nécessaires et, de plus, 20 % environ de sujets soumis à la vaccination restent réceptifs.

Done, pour la plupart de ces méthodes, les difficultés techniques d'application, la possibilité d'accidents pro-

(1) Lowenstein et Busson disent très justement : « les mélanges neutres ou ceux qui contiennent de l'antitoxine en léger excès, peuvent avec le temps des expériences portent sur des mélanges conservés à la glacière depuis 5 ans) devenir franchement toxiques. L'emploi de tels mélanges peut donc, dans la pratique, présenter un réel danger ».

duits par la dissociation des mélanges, la lenteur de l'immunisation et parfois, comme nous l'avons indiqué pour la méthode de BEHRING, la brève durée de l'immunité conférée faisaient souhaiter la découverte d'une méthode de vaccination antidiphtérique, simple dans son application, inoffensive en raison de l'emploi d'un produit non susceptible de se modifier spontanément dans le temps et conférant rapidement l'immunité.

Nous essaierons de montrer que l'anatoxine diphtérique remplit ces conditions, en étudiant son mode de préparation, son contrôle et les résultats des vaccinations pratiquées avec l'anatoxine.

L'ANATOXINE DIPHTÉRIQUE

PRÉLIMINAIRES

L'action des agents physiques et chimiques sur les toxines microbiennes avait été étudiée dès leur découverte. Nous avons vu au cours de ce travail que soumise à l'action de la chaleur ou de composés chimiques la toxine diphtérique s'atténuait, perdait sa toxicité mais conservait ses propriétés immunisantes comme le démontrent de nombreux essais d'immunisation réalisés sur les animaux de laboratoire, et sur les animaux producteurs de sérum, avec une toxine ainsi modifiée.

FRANKEL, le premier, en 1890, chauffant la toxine à 65°-70° immunise des animaux. BEHRING, avec le trichlorure d'iode, ROUX et MARTIN avec la liqueur de Gram, à la suite des travaux de ROUX et VAILLARD sur la toxine tétanique, atténuent la toxine diphtérique destinée à l'immunisation des chevaux. Plus près de nous, en 1907, ANDERSON, étudiant les propriétés antiseptiques du formol, montre son action sur les toxines : après quelques heures de contact, le formol, à 3 ou 5 %, détruit les toxines tétanique et diphtérique qui, par la suite, deviennent inactives pour le cobaye.

En 1909, LÖWENSTEIN ajoutant du formol à la toxine tétanique et l'abandonnant ensuite assez longtemps à l'action de la lumière diffuse, constate que 5 centimètres cube de cette toxine ainsi traitée, injectée en une seule

fois protège le cobaye contre 50.000 doses mortelles de toxine contenant des bacilles vivants. Cette disparition du pouvoir toxique peut aussi s'obtenir sans action spéciale de la lumière en laissant la préparation à l'étuve. Eprouvée de la même façon la toxine diphtérique se serait prêtée moins bien à l'atténuation par le formol.

En 1921, GLENNY et HOPKINS avaient noté la conservation du pouvoir antigène des toxines modifiées par le formol.

Mais les agents physiques et chimiques atténuent non seulement le pouvoir toxique, mais aussi le pouvoir immunisant des toxines soumises à leur action et l'emploi de ces toxines atténuées, pour l'immunisation des animaux producteurs de sérum, ne donnait certainement pas tous les résultats que l'on était en droit d'attendre, en l'absence d'un contrôle précis, indiquant le moment où l'atténuation ayant détruit le pouvoir toxique commençait à atteindre le pouvoir immunisant et l'application de ces toxines atténuées était impossible pour la vaccination humaine.

Et c'est peut-être le point le plus intéressant des recherches de RAMON que l'application de la méthode de flocculation à l'étude des toxines atténuées qui allait nous permettre de nous rendre compte « in vitro » de l'action des agents physiques et chimiques sur le pouvoir antigène des toxines, nous renseignant en même temps sur sa valeur (1).

(1) En 1909, CALMETTE et MASSOL, étudiant les précipitines du sérum antivenimeux en présence de venin de cobra, avaient émis l'idée que la réaction de précipitation pourrait servir in vitro au titrage préalable et approximatif du sérum anticobraïque.

En 1919, M. NICOLLE, CESARI, DEBAINS, montrent grâce à un procédé spécial (dérivé de la méthode d'ASCOLI) qu'il se forme un disque opalescent dans la zone de contact d'une toxine concentrée et solidifiée par la gélatine, et d'une dilution de sérum à titrer. D'après ces auteurs, on peut ainsi doser soit les antitoxines, soit la toxine diphtérique ou tétanique.

LA FLOCCULATION

Pour étudier la flocculation, RAMON opère sur des mélanges toxine-antitoxine diphtérique, ainsi préparés dans des tubes à essai contenant chacun 20 centimètres cubes d'une toxine diphtérique filtrée au 9^e jour de culture et tuant en quatre jours un cobaye de 250 gr. à la dose de 1/500 de centimètre cube, ajoute des quantités décroissantes d'un sérum antidiphtérique frais titrant 200 unités d'EHRlich au centimètre cube (1 cc 5 ; 1 cc ; 0 cc 9 ; 0 cc 4 ; 0 cc 3).

Après avoir agité le mélange, il constate une opalescence du liquide de certains tubes ; cette opalescence augmente graduellement et au bout d'un temps variable, quelques heures à la température ordinaire, elle se transforme peu à peu en flocculation par l'agglutination des fines particules en flocons de plus en plus nets. Si l'on suit attentivement la marche de l'opération, on constate que dans l'un des tubes la flocculation apparaît plus rapidement. Cette « *flocculation initiale* » présente une signification toute particulière, les proportions de la toxine et de l'antitoxine de ce mélange sont telles, comme le prouve l'inoculation au cobaye, que la toxine et l'antitoxine sont exactement neutralisées : il y a saturation réciproque des deux constituants du mélange : l'antigène et l'anticorps (1).

Ainsi, dans une toxine, telle que la toxine diphtérique, en plus du pouvoir toxique et du pouvoir antigène (c'est-à-dire de la faculté de provoquer « *in vivo* » l'immunité et

(1) On conçoit qu'il sera facile de titrer par l'apparition de la « *flocculation initiale* » témoin de la saturation, la toxine d'une part et d'autre part les propriétés antitoxiques des sérums.

la production de l'antitoxine), il faudra dorénavant tenir compte de son pouvoir flocculant.

RAMON s'attache alors à rechercher les rapports existant entre ces trois pouvoirs : pouvoir toxique, pouvoir antigène, pouvoir flocculant.

Au cours de nombreux essais effectués sur des chevaux en voie d'immunisation, il constate que le pouvoir antigène (immunisant) ne dépend pas du pouvoir toxique « actuel », c'est-à-dire du nombre de doses mortelles injectées, mais qu'il va de pair avec le pouvoir flocculant de la toxine au moment de l'injection.

« Dans ces conditions, dit RAMON, une toxine qui aura, « sous des influences diverses, perdu en partie ou même en « totalité son pouvoir nocif, mais qui aura gardé sa valeur « flocculante vis-à-vis de l'antitoxine, devra avoir aussi « conservé ses propriétés immunisantes. » La vérification de ces faits allait amener RAMON à la découverte de l'anatoxine diphtérique.



L'ANATOXINE DIPHTÉRIQUE

RAMON, qui ajoutait toujours à la toxine diphtérique lui servant dans ses différents dosages « in vitro » une quantité minime (1 pour 2.000) d'aldéhyde formique (dans le but d'éviter des contaminations de la toxine au cours de l'opération), constate que, si le pouvoir flocculant d'une toxine ainsi formolée et abandonnée à la température ordinaire, reste la même pendant plusieurs mois, son pouvoir nocif diminue graduellement et rapidement, surtout si la température du laboratoire est un peu élevée. Mettant à profit cette observation, RAMON augmente alors la quantité

de formol (jusqu'à 3 et 4 pour 1.000) et la température jusqu'à 40° (1).

Traitant ainsi une toxine, tuant à la dose de 1/800 de centimètre cube un cobaye de 300 grammes en quatre jours, il obtient environ, en un mois, « un produit qui est « capable de flocculer en présence de la même quantité « d'antitoxine que la toxine originelle, mais qui ne provoque plus chez le cobaye ni lésions locales, ni symptômes « généraux, précoces ou tardifs, d'intoxication diphtérique, même à la dose de 1 centimètre cube. »

Ce produit, dont l'innocuité est certaine, est alors injecté à des cobayes (1 centimètre cube sous la peau) ; au bout de 15 à 18 jours, après une seule injection, ces animaux résistent à l'inoculation de plusieurs doses mortelles de toxine ; au bout d'un mois, ils résistent à 50-100 doses mortelles de toxine ; avec deux injections de 1 centimètre cube faites à trois semaines d'intervalle, les cobayes résistent, dix jours après la deuxième injection à 1.000 doses mortelles et plus.

Ayant prouvé chez le cobaye la valeur immunisante de cette toxine modifiée, RAMON s'attache ensuite à mettre en évidence la production d'antitoxine : il injecta à des chevaux neufs un ou plusieurs centimètres cubes de ce produit et constate que le sérum de ces chevaux contient, après huit à dix jours, 30, 40, 100 unités antitoxiques au centimètre cube.

Ces résultats *montrent bien que « ce produit, qui a perdu toute la nocivité de la toxine dont il dérive, mais*

(1) Des recherches que RAMON poursuit avec Monsieur BERTHELOT leur ont permis de déceler plusieurs agents physiques (en particulier d'autres Aldéhydes) jouissant de la même propriété que l'Aldéhyde formique. D'ailleurs RAMON avait déjà indiqué qu'avec la chaleur ménagée, la liqueur de Gram, on peut aussi préparer des anatoxines, inférieures il est vrai dans leurs résultats à celles obtenues par l'action combinée de la chaleur et du formol.

« qui en possède encore la valeur floculante, en a conservé
« également toutes les propriétés immunisantes ». C'est à
ce produit que RAMON a donné le nom d'anatoxine (1).

Par la suite, de multiples essais comparatifs « in vitro »
et « in vivo » chez le cobaye et le cheval ont montré qu'une
anatoxine est d'autant plus immunisante qu'elle exige
pour floculer une plus grande quantité d'antitoxine (2).

Cette anatoxine jouit de propriétés spéciales qui en font
un véritable corps nouveau :

« C'est ainsi, écrit RAMON, qu'elle se montre beaucoup
« plus résistante à la chaleur et aux agents de destruction
« en général que la toxine dont elle dérive ; chauffée à 70°
« et plus, elle garde intactes ses propriétés floculantes,
« saturantes et immunisantes, alors que la toxine perd, en
« grande partie ou en totalité, ces mêmes propriétés, à une
« température bien inférieure. De plus, nous possédons, à
« l'heure actuelle, des anatoxines diphtériques qui, après
« plus d'un an de séjour à la glacière, ou même à la tempé-
« rature ordinaire, à l'abri ou en présence de l'air, n'ont
« presque rien perdu de leur valeur. Cette résistance à
« la chaleur, cette bonne conservation sont intéressantes
« au point de vue des applications pratiques dont l'ana-
« toxine diphtérique peut être susceptible. »

(1) RAMON constate sur lui-même l'inocuité de l'anatoxine ; il s'in-
jecte sous la peau 0 cc 2 d'anatoxine, qui ne provoque qu'une réaction
légère.

(2) « En réalité, la réaction de floculation ne donne pas (et aucune
méthode in vitro ou in vivo ne la donne) la valeur immunisante absolue
des anatoxines, mais seulement la valeur relative.

L'on peut exprimer et chiffrer cette valeur en unités antigéniques
et anatoxiques, représentées par le nombre d'unités antitoxiques, capa-
bles de saturer in vitro 1 cc. d'anatoxine c'est-à-dire capable de faire
apparaître dans ce centimètre cube la floculation initiale. »

VACCINATION AVEC L'ANATOXINE CHEZ L'HOMME

PREMIÈRES VACCINATIONS

Les résultats encourageants chez le cobaye et le cheval ouvrirent la voie à la vaccination humaine.

Bientôt des essais d'immunisation antidiphtérique de l'homme par l'anatoxine furent entrepris sous la direction de Monsieur le Docteur MARTIN, à l'hôpital Pasteur, par MM. DARRÉ, LOISEAU et LAFFAILLE qui s'attachèrent avant tout à montrer l'augmentation du pouvoir antitoxique des sérums des sujets vaccinés, partant la valeur antigène de l'Anatoxine.

Dans un mémoire présenté à la Société médicale des Hôpitaux et qui fut antérieurement l'objet d'un rapport de L. MARTIN à l'Académie de Médecine, DARRÉ, LOISEAU, LAFFAILLE étudient la vaccination diphtérique du double point de vue clinique et sérologique. Nous résumerons ici leurs observations.

Ils divisèrent leurs malades en :

1° Malades à réaction de Shick négative au nombre de trois dont deux adultes et un enfant ;

2° Malades à réaction de Shick positive, un adulte et un enfant ;

3° Convalescents d'angine diphtérique, deux adultes, trois enfants ;

4° Convalescents de scarlatine, deux enfants.

Pour chacun de ces malades ils étudièrent les différents modes d'injection et de réaction et le dosage du pouvoir antitoxique de leur sérum pratiqué avant la vaccination, puis tous les huit jours, enfin tous les quinze jours pendant deux, trois mois pour la plupart.

Ils se servirent pour le titrage du pouvoir antitoxique du sérum de leurs malades de la méthode de RÖMER.

1° --- SUJETS A RÉACTION DE SCHICK NÉGATIVE

Observation I

Louis H..., 12 ans, convalescent de grippe, réaction de Schick négative, le 29 décembre 1923, vacciné le 29 décembre avec 0 centimètre cube 5 d'anatoxine.

Réaction locale très légère, température ne dépasse pas 37°8, sous l'influence de la vaccination on voit monter rapidement l'anatoxine de son sérum.

Le 29 décembre avant la vaccination : moins d'1/10 d'unité ;

Le 6 janvier : plus de quatre unités ;

Le 13 janvier : plus de sept unités ;

Le 19 mars : plus de neuf unités.

Observation II

André R..., lépreux, réaction de Schick négative, le 17 novembre 1923. Injection de 1 centimètre cube d'ana-

toxine le 19 novembre, maxima de la réaction thermique consécutive : 37°8.

Avant vaccination, 19 novembre 1923 : plus d'une unité antitoxique.

Le 15 décembre : plus de quinze unités ;

Le 22 décembre : entre quinze et trente unités ;

Le 29 décembre : entre quinze et trente unités ;

Le 27 janvier : vingt unités.

Observation III

Gabrielle V..., trente-huit ans, convalescente d'encéphalite, Schick négatif, le 23 novembre 1923.

Première injection d'anatoxine, 0 centimètre cube 5, le 23 novembre suivie d'un peu de rougeur au point d'injection.

Deuxième injection d'anatoxine, 1 centimètre cube, le premier décembre, avec réaction locale caractérisée par un placard inflammatoire assez étendu au niveau du flanc gauche sans infiltration des tissus sous-jacents, sans douleur ni réaction ganglionnaire.

Avant la première vaccination (22 novembre 1923 : moins d'1/10 d'unité ;

Avant la deuxième vaccination (premier décembre 1923) : plus de 2 unités ;

8 décembre 1923 : plus de 10 unités ;

15 décembre 1923 : plus de 30 unités ;

22 décembre 1923 : entre 50 et 60 unités ;

29 décembre 1923 : entre 40 et 50 unités ;

13 janvier 1924 : 50 unités ;

27 janvier 1924 : entre 40 et 50 unités ;

29 mars 1924 : entre 20 et 30 unités.

2° --- SUJET A RÉACTION DE SCHICK POSITIVE

Observation IV

Georges D..., 13 ans, convalescent de grippe, réaction de Schick positive, le 27 décembre 1923 ; injection de 0 centimètre cube 5 d'anatoxine, le 29 décembre. Pas de réaction locale.

Nouvelle réaction de Schick positive, le 26 janvier, 28 jours après la vaccination.

Le 29 mars, trois mois après l'injection de 0 centimètre cube 5 d'anatoxine, la réaction de Schick est devenue négative.

Dosage du pouvoir antitoxique avant vaccination, 29 décembre 1923 : moins d'1/10 d'unité ;

6 janvier 1924 : moins d'1/10 d'unité ;

27 janvier 1924 : moins d'1/10 d'unité ;

29 mars 1924 : moins d'1/10 d'unité.

Observation V

Louis L..., 52 ans, convalescent de peste bubonique. Réaction de Schick positive, le 17 novembre 1923.

Première injection d'anatoxine de 0 centimètre cube 1, le 23 novembre, tuméfaction locale disparue en 48 heures, très faible réaction thermique.

Deuxième injection d'anatoxine de 1 centimètre cube, le lendemain, empâtement de la région de l'injection, réaction ganglionnaire légère, réaction thermique 38°. Etat revenu à la normale le 3^e jour.

Avant la première vaccination, 22 novembre 1923 : moins d'1/10 d'unité ;

Avant la deuxième vaccination, premier décembre 1923 : moins d'1/10 d'unité ;

8 décembre 1923 : moins d'1/10 d'unité ;

15 décembre 1923 : entre 1/2 et 1 unité, (15 jours après la deuxième vaccination) ;

22 décembre 1923 : entre 1/2 et 1 unité ;

13 janvier 1924 : entre 1/2 et 1 unité ;

27 janvier 1924 : entre 1/10 et 1/5 d'unité ;

29 mars 1924 : entre 1/10 et 1/5 d'unité.

La réaction de Schick pratiquée le 26 janvier 1924, (64 jours après la première vaccination et 57 après la deuxième) était négative.

3° --- CONVALESCENTS DE DIPHTÉRIE ET DE SCARLATINE

Observation VI

Robert E..., dix ans, angine diphtérique ayant débuté le premier décembre 1923, traitée le 4 et 5 décembre par 40 et 20 centimètres cubes de sérum antidiphtérique, porteur de germes, jusqu'au 19 janvier 1924.

La réaction de Schick pratiquée le 27 décembre, 21 jours après la deuxième injection de sérum antidiphtérique était négative.

Injection d'anatoxine de 0 centimètre cube 5, le 29 décembre 1923. Le lendemain légère réaction locale. Température entre 38° et 38°5 toute la journée. Le 3° jour disparition de réaction locale, mais la température atteint 38° pendant la journée.

Dosage du pouvoir antitoxique :

Avant vaccination, 29 décembre 1923 : entre 1/5 et 1/2 unité ;

6 janvier 1924 : entre $1/5$ et $1/2$ unité ;
13 janvier 1924 : entre $1/10$ et $1/5$ d'unité ;
5 février 1924 : entre $1/10$ et $1/5$ d'unité.

Observation VII

André D..., 19 ans, angine diphtérique du 15 octobre 1923 ; quatre injections de sérum antidiphtérique de 40 centimètres cubes, les 20, 21 et 23 octobre, porteur de germes jusqu'au 19 janvier 1924.

Injection d'anatoxine de 1 centimètre cube, le premier décembre 1923. Réaction locale le 1^{er} et le 2^e jour, (peau douloureuse, rouge, œdémateuse, ganglions douloureux et tuméfiés

En trois jours disparition de cette réaction.

Réaction générale, le lendemain de l'injection : céphalée, nausées, la température $38^{\circ}7$; le deuxième jour la température revient à la normale.

Dosage du pouvoir antitoxique :

Avant vaccination, premier décembre : plus d' $1/10$ d'unité ;

8 décembre 1923 : plus de 2 unités ;
15 décembre 1923 ; entre 2 et 5 unités ;
29 décembre 1923 : entre 2 et 4 unités ;
13 janvier 1924 : entre une et 2 unités.

Observation VIII

Germaine P..., trente-trois ans, angine diphtérique, le 20 octobre, traitée par trois injections de sérum antidiphtérique de 50, 40, 40 centimètres cubes les 20, 21, 22 octobre, porteur de germes jusqu'au 13 janvier 1924.

Injection d'anatoxine de 1 centimètre cube, le 1^{er} décembre 1923, suivie de réaction locale et générale particulièrement intense.

Réaction locale inflammatoire avec réaction ganglionnaire, aspect pseudo-phlegmonneux, température aux environs de 39°.

Avant vaccination, 1^{er} décembre : moins d'1/10 d'unité ;

8 décembre 1923 : plus de 2 unités ;

15 décembre 1923 : entre 2 et 5 unités ;

22 décembre 1923 : entre 1 et 2 unités ;

29 décembre 1923 : entre 1 et 2 unités ;

13 janvier 1924 : entre 1/2 et 1 unité ;

1^{er} mars : entre 1/2 et 1 unité.

Observation IX

Lucien N..., cinq ans, convalescent de scarlatine, vacciné le 29 janvier avec 0 centimètre cube 5 d'anatoxine. Réaction locale très légère marquée surtout par une éruption qui persiste 56 jours ; température maxima, 39°, quarante-huit heures après la vaccination.

Le pouvoir antitoxique n'a pu être dosé que sept jours après ce vaccin.

Avant vaccination : 28 janvier : 1/10 d'unité ;

5 février : plus de 5 unités.



Voyons maintenant l'interprétation critique que donnent de ces essais les auteurs du mémoire.

La valeur antigène ou immunisante de l'anatoxine dans la vaccination diphtérique ressort très nettement des observations ci-dessus.

Elle est prouvée : 1° *Par la disparition de la réaction de Schick* (observations IV et V) ;

2° *Par l'augmentation du pouvoir antitoxique du sérum des vaccinés*, surtout manifesté dans la série des vaccinés à réaction de Schick négative, c'est-à-dire ayant un commencement d'immunité. De l'observation III, la teneur du sérum avant la vaccination est inférieure à 1/10 d'unité ; en un mois, elle s'élève à 50 unités.

Chez les vaccinés à réaction de Schick positive, la formation d'antitoxine est encore très nette ; observation IV, moins de 1/10 d'unité avant vaccination, au moins 1/10 d'unité après trois mois.

Observation V, moins d'1/10 d'unité avant vaccination, au moins 1/2 unité quinze jours après vaccination.

L'augmentation du pouvoir antitoxique chez les convalescents de diphtérie s'apprécie moins facilement ; en effet, dans l'observation VI, l'injection de 0 centimètre cube 5 d'anatoxine a été faite vingt et un jours après la dernière injection de sérum antidiphtérique, le pouvoir antitoxique du sérum avant vaccination, qui est de 1/5 d'unité, provient encore en partie de l'antitoxine injectée ; six semaines après la vaccination, le pouvoir antitoxique est encore de 1/10 d'unité. Ces auteurs pensent que la persistance de cette quantité d'antitoxine neuf semaines après la dernière injection de sérum doit être attribuée à la vaccination ; observation VII, le pouvoir antitoxique se maintient à 2 unités dans le mois qui suit la vaccination avec 1 centimètre cube d'anatoxine, après six semaines il est encore de 1 unité ; observation VIII, 2 unités dans les quinze jours qui suivent la vaccination avec 1 centimètre cube d'anatoxine, 1 unité pendant les quinze jours suivants, encore 1/2 unité après trois mois.

Les deux derniers vaccinés, convalescents de scarlatine (observation IX et X), ont été suivis peu de temps : chez l'un, sept jours après la vaccination avec 0 centimètre cube 5 d'anatoxine, le pouvoir antitoxique est passé de 1/10 d'unité à 5 unités.

Comme on le voit, l'augmentation du pouvoir antitoxique du sérum est évidente. Quant à sa persistance, les auteurs, devant le temps relativement court d'observation de leurs sujets, font remarquer que cette augmentation s'est maintenue à un taux relativement élevé pendant des périodes assez longues : 20 unités après deux mois, dans l'observation II ; 9 unités après 3 mois (observation I) ; dans l'observation III, entre 20 et 30 unités au bout de quatre mois ; enfin, dans l'observation V, il oscillait entre 1/2 et 1 unité après trois mois.

Il n'est pas douteux, d'après la production d'antitoxine obtenue, que la dose de 0 centimètre cube 5 d'anatoxine peut être suffisante pour vacciner certains sujets (observations I, VI, X) ; chez d'autres, au contraire, elle paraît un peu faible (observation IV, seulement 1/10 d'unité après trois mois). L'injection unique de 1 centimètre cube d'anatoxine a toujours paru suffisante (observations II, VII, VIII). La répartition des injections, soit 0 centimètre cube 5 et 1 centimètre cube à huit jours d'intervalle, amène une très forte production d'antitoxine (observation III).

D'après ces résultats et en tenant compte également des vaccinations chez le cobaye pratiquées par G. RAMON, DARRÉ, LOISEAU et LAFFAILLE proposent d'injecter désormais l'anatoxine aux doses de 0 centimètre cube et 1 centimètre cube à quinze ou vingt jours d'intervalle, la dose de 1 centimètre cube d'emblée leur ayant paru un peu forte chez certains sujets.

VACCINATION CHEZ L'ENFANT

Devant les résultats obtenus à l'hôpital Pasteur, MM. ROUBINOVITCH, LOISEAU, LAFFAILLE entreprennent la vaccination des enfants de l'Institut des Sourds-et-Muets d'Asnières, du service des Enfants de Bicêtre et de la fondation Vallée.

Ils pratiquent d'abord une réaction de Schick sur tous les enfants (469) avec témoin à la toxine chauffée. Ils éliminent 326 enfants présentant une réaction de Schick négative. (Il est, en effet, couramment admis jusqu'à présent que la réaction de Schick est un test suffisant d'immunité diphtérique.) Prenons les 143 enfants dont sept avec fausses réactions, coïncidant avec association de réactions vraies. Ils leur injectent 0,5 centimètre cube d'anatoxine de RAMON. De 14 à 40 jours après la vaccination, suivant les séries d'enfants, ils pratiquent une deuxième réaction de Schick et constatent que 37 % des enfants ont une réaction de Schick négative.

Les enfants ayant une réaction de Schick positive après cette première vaccination reçoivent une deuxième injection d'anatoxine de 1 centimètre cube. De 21 à 26 jours après, les auteurs pratiquent une nouvelle réaction de Schick et ils constatent que, sur les 53 enfants soumis à cette dernière vaccination, 43, c'est-à-dire 81 %, présentent une réaction de Schick négative, donc sont immunisés.

En réunissant les deux vaccinations, les auteurs ont un total de 89 enfants, 36 ayant reçu une seule injection avec

0,5 centimètre cube, 43 ayant reçu deux injections de 0,5 centimètre cube, et l'autre de 1 centimètre cube.

Donc, en 39-48 jours, 79 sur 89 enfants, soit 88,7 %, sont vaccinés.

Restaient dix enfants présentant encore un Schick positif ; ils reçoivent une troisième injection de 1 centimètre cube ; cinq sont revus et éprouvés à nouveau par la réaction de Schick. Cette dernière est négative dans quatre cas, positive dans le cinquième.

Ainsi, 84 enfants sur 85 qui ont été suivis se sont montrés immunisés, soit une proportion de 98,8 % après huit semaines.

VACCINATION CHEZ L'ADULTE

Simultanément, dans son service du Val-de-Grâce, M. le Professeur Agrégé Chr. ZOELLER entreprend des essais de vaccination de l'adulte par l'anatoxine de Ramon.

Grâce à la réaction de Schick, il sépare 59 sujets réceptifs.

Dans une première série, 33 sujets reçoivent, les 7, 9 ou 12 février 1924, une première injection d'anatoxine. Tous les réceptifs ont reçu une, deux ou trois injections successives (0 centimètre cube 5, 1 centimètre cube, 1 centimètre cube 5). Après chaque inoculation, les sujets devenus Schick négatifs étaient laissés de côté et seuls continuaient à être réinoculés les sujets demeurés réceptifs.

Le 25 mars, tous les sujets de cette série sont soumis à l'épreuve de Schick dont la lecture a lieu le 29 et le 30 mars ; il s'était donc écoulé six semaines, en moyenne, entre le moment où les sujets ont subi la première inoculation et celui où a eu lieu la deuxième lecture.

Sur 33 vaccinés, 28 ont pu être suivis jusqu'au 30 mars, 27 présentaient une réaction de Schick négative, donc vaccinés avec succès ; les cinq sujets restant sortis de l'hôpital avant la fin de l'expérience présentaient, au moment de leur départ, une réaction de Schick atténuée ; ils se trouvaient donc en voie d'immunisation.

Restait un deuxième lot de 26 sujets réceptifs ; ZOELLER entreprend leur vaccination, le 24 février pour les uns, le 3 mars pour les autres.

Vingt reçoivent trois inoculations (1 centimètre cube, 1 centimètre cube, 1 centimètre cube 5), quinze jours séparant les deux premières inoculations ; la troisième étant, suivant le cas, pratiquée huit jours ou quinze jours après la seconde.

Le 11 avril, ZOELLER lit la réaction de Schick de contrôle (six semaines en moyenne après le début de la vaccination). Il constate que tous les 26 sujets sont vaccinés avec succès.

Six sujets de ce groupe, n'ayant reçu que deux injections étaient en voie d'immunisation (Schick atténué) en quittant l'hôpital.

Parmi 59 sujets réceptifs, 48, après avoir reçu trois inoculations d'anatoxine à doses croissantes, étaient complètement immunisés au bout de six semaines. Onze sujets, qui n'avaient pu être suivis pendant un aussi long temps, ne reçurent que deux injections d'anatoxine et, comme ZOELLER l'a fait remarquer, les épreuves de contrôle les montraient en voie d'immunisation, ce qui permettrait de penser, d'après l'analyse judicieuse que ZOELLER donne dans son mémoire de la marche de la vaccination que l'on pourrait obtenir un pourcentage de 100 % d'immunisation au bout de six semaines.

AUTRES VACCINATIONS CHEZ L'ENFANT

Ainsi donc, dès ses premiers essais, l'anatoxine a marqué un réel progrès sur toutes les méthodes d'immunisation antidiphthérique employées jusqu'à ce jour ; le temps nécessaire à l'immunisation est désormais singulièrement écourté, puisque dans un délai maximum de deux mois la vaccination est assurée ; depuis ces premiers travaux, d'autres auteurs ont apporté leur contribution à cette étude et nous n'en voulons pour preuve que la très intéressante communication de MM. LEREBoullet et JOANNON à la Société Médicale des Hôpitaux de Paris le 11 juillet 1924. Ils ont fait saisir combien il était nécessaire d'avoir, dans les collectivités d'enfants (hôpitaux ou école), une méthode d'immunisation provoquée plus rapide et plus sûre que les procédés de vaccination dont les effets ne se manifestent qu'au bout de plusieurs mois, procédés qui ne sauraient mettre à l'abri des contaminations massives en temps d'épidémie. Très justement préoccupés par cette question, MM. LEREBoullet et JOANNON entreprirent l'immunisation antidiphthérique des enfants de l'Hôpital d'Antony en employant l'anatoxine de RAMON.

Le 15 avril 1924, sur une première série de malades, ils pratiquent 44 réactions qui donnent 14 Schick positifs, 7 fausses réactions, dont 2 chez des sujets à Schick positif.

Le 22 avril, un deuxième lot de malades est éprouvé et ils obtiennent 19 résultats positifs sur 43 réactions, avec 5 fausses réactions, dont 2 chez les sujets à Schick positif.

Le 25 avril, les 14 enfants réceptifs du premier lot reçoivent sur la face externe de la cuisse 0 centimètre cube 5 d'anatoxine ; le 18 mai, à l'exception d'une petite fille, morte de méningite tuberculeuse, seconde injection de un centimètre cube d'anatoxine.

Le 10 juin, 22 jours après la deuxième injection, 45 jours après la première, les 13 enfants sont soumis à une nouvelle épreuve de Schick ; 12 sur 13 ont présenté une réaction négative ; le treizième a accusé un Schick très faiblement positif.

LEREBOUILLET et JOANNON accordent un sursis de trois semaines à l'enfant et, le 1^{er} juillet, un Schick de contrôle se montre négatif. Ainsi donc, 45 jours ont suffi à rendre un Schick négatif chez 12 sujets (92 %) et 67 jours chez le treizième.

Pratiquant entre temps chez les enfants du deuxième lot, qui n'avaient pas été vaccinés, une réaction de Schick, 56 jours après la première réaction, ils trouvent sur les onze enfants encore présents à l'hôpital un Schick positif.

En résumé : « L'état réfractaire qu'exprime un Schick « négatif s'est développé en environ deux mois chez 100 % « des sujets injectés et ne s'est pas développé dans le « même laps de temps chez 100 % des sujets non « injectés. »

En Belgique, HENSEVAL et NÉLIS, en octobre 1924, emploient l'anatoxine pour tenter d'immuniser vingt enfants réceptifs âgés de 4 à 10 ans ; ils injectent 0 centimètre cube 5 et 1 centimètre cube d'anatoxine à vingt jours d'intervalle ; trente-cinq jours après la première injection, sur seize enfants qui ont été revus, quinze avaient un Schick négatif, un seul enfant avait un Schick positif, donc 93,7 %.

VACCINATION EN MILIEU ÉPIDÉMIQUE

ZOELLER qui, dès son premier mémoire, désirait voir se superposer à la réaction de Schick, critérium d'ordre purement expérimental, un critérium d'ordre épidémiologique qui permit de juger la vaccination par l'anatoxine en période d'épidémie intense, devait avoir bientôt, au cours d'une épidémie de diphtérie sévissant sur la garnison de Mayence, l'occasion de faire la preuve de la valeur immunisante de l'anatoxine.

Pratiquant systématiquement la réaction de Schick et l'anatoxi-réaction (1), dont il est l'auteur, ZOELLER désigne, dans les diverses unités de la garnison, des sujets réceptifs, puis entreprend une série de vaccinations anti-diphtériques sur des volontaires.

143 sujets reçoivent, entre le 15 et le 18 août, une première injection d'anatoxine de 0 centimètre cube 5, sans que l'on ait à constater de réaction particulièrement sévère.

Quinze jours après cette première inoculation, 102 sujets sont soumis à une seconde vaccination qui ne fut marquée par aucune réaction locale ou générale.

Le 4 novembre, deux mois et demi après le début de la vaccination, aucun cas de diphtérie n'avait été constaté

(1) ZOELLER en injectant dans le derme 0 cc 2 d'une solution d'anatoxine à 1 pour 1.000 peut déceler au bout de 24 heures chez certains sujets ce qu'il a appelé une anatoxi-réaction. D'après lui cette anatoxi réaction révèle un état particulier qui, sans être l'immunité vraie, représente un stade vers l'immunité.

Opinion confirmée d'ailleurs par LEREBOULET, BOULANGER-PILET, LELONG.

parmi les 102 soldats ayant reçu deux injections d'anatoxine. Un cas de diphtérie bactériologiquement confirmé (bacille court), mais se présentant comme une simple angine rouge sans exsudat et sans fièvre, fut constaté chez un soldat qui n'avait reçu qu'une seule injection d'anatoxine.

Par contre, 108 sujets non vaccinés furent hospitalisés pour diphtérie entre le 1^{er} septembre et le 1^{er} novembre. Et, se basant sur les résultats de la réaction de Schick, ZOELLER évalue la proportion des sujets réceptifs et celle des cas de diphtérie confirmée dans quatre unités les plus contaminées, établit le tableau suivant :

NON VACCINÉS

6 ^e Cuirassiers :	209 réceptifs donnent	7 cas ---	3,34 %
3 ^e Cuirassiers :	249 réceptifs donnent	6 cas ---	2,40 %
Artillerie :	310 réceptifs donnent	22 cas ---	4,31 %
Génie :	443 réceptifs donnent	13 cas ---	2,03 %

VACCINÉS

41 (une seule inoculation) :	1 cas ---	2,04 %
102 (deux inoculations) :	0 cas ---	0 %

Nous nous bornerons, dans ce travail, à constater l'éloquence des faits qui viennent, une fois de plus, démontrer la valeur immunisante de l'anatoxine, sans pour cela que nous méconnaissions un instant le rôle de la « collaboration de la vaccination et de l'infection » qui, en milieu épidémique, ne saurait être méconnue, les contacts répétés avec le bacille diphtérique préparant le terrain à l'immunité vaccinale qui ne peut qu'y gagner en rapidité et en stabilité.

RÉACTIONS PROVOQUÉES PAR LES INJECTIONS D'ANATOXINE

Notons, d'après tous ces auteurs, quelles sont les réactions locales et générales produites par l'anatoxine.

Pour DARRÉ, LOISEAU et LAFFAILLE, la réaction locale a été nulle (obs. II, III, IV, IX), très légère (obs. I, VI) dans quelques cas la réaction fut plus marquée (obs. III, V, VII). Dans un seul cas (obs. VIII), adulte convalescent d'angine diphtérique, la réaction locale fut très marquée et s'accompagna d'une forte réaction générale, la fièvre dépassant 39° ; tous ces symptômes s'amendaient rapidement vers le troisième jour.

Il n'y a pas de parallélisme entre la réaction locale et la réaction thermique. Cette dernière est de 37°8, 38°2, 39°, 39° en moyenne, 6 à 7 heures et 34 à 39 heures après la vaccination.

Pour MM. ROUBINOVITCH, LOISEAU, LAFFAILLE, la première injection ne produit pas de réaction locale marquée chez 80 % des sujets. Chez 2 % des vaccinés furent observées des réactions locales marquées, fait important à signaler ; ces réactions se produisent chez des enfants à fausse réaction de Schick à la toxine chauffée, indice d'une sensibilité particulière aux protéïnes.

La deuxième injection de 1 centimètre cube n'amène aucune réaction chez 60 % des vaccinés.

La réaction générale, après la première injection, provoque une réaction thermique entre 37° et 37° 8 chez environ

68 % des vaccinés. Parmi 22 %, la température atteint 38°, quelques-uns et parmi eux les enfants à Schick positif dépassent 39°. Ces phénomènes ne durent pas plus de trois jours.

Après la deuxième injection de 1 centimètre cube, on observe un peu moins de réaction faible entre 37° et 37°8.

Dans les vaccinations de M. ZOELLER, sur 250 inoculations, aucune ne fut suivie d'une réaction sérieuse ; quatre fois la température a dépassé 38°, une seule fois elle a atteint 39°, chez un convalescent de rougeole. Les quatre réactions fortes sont survenues chez des sujets présentant une pseudo-réaction marquée. Dans la très grande majorité des cas, il n'existe aucune réaction ni locale, ni générale.

LEREBOULLET et JOANNON, chez 14 vaccinés, ont constaté la production après la première injection de deux réactions locales fortes et deux réactions faibles.

Après la deuxième injection, les réactions légères ne se reproduisent pas ; par contre, les deux réactions fortes se répètent aussi intenses qu'à la première injection, et l'on constate chez des sujets indemnes la première fois des réactions locales assez marquées.

LEREBOULLET et JOANNON remarquent que les plus fortes réactions locales sont produites chez deux enfants qui présentent une fausse réaction de Schick.

Quant aux réactions générales, les réactions faibles ont été plus fréquentes. Après la deuxième injection, deux ont dépassé 39°, les neuf autres ont été très modérées, se produisant soit le soir même, soit le lendemain. Dans trois cas, il y a eu réaction locale sans fièvre et, dans sept cas, fièvre avec réaction locale, dissociation fréquente ; ces auteurs ne signalent ni nausées, ni abattement, ni frisson.

HENSEVAL et NÉLIS n'ont observé, à la première injection, aucune réaction générale, seulement un peu de rougeur et d'empâtement au point injecté.

Au moment de la seconde injection, un peu de fièvre, de la céphalée et de l'inappétence chez quatre enfants.

En résumé, réaction locale et générale à peine marquée chez la plupart des sujets, en particulier chez les enfants.

Réactions locales et générales plus marquées chez les sujets adultes à fausse réaction de Schick et chez les convalescents de diphtérie.

Ces réactions disparaissent très rapidement.

AVANTAGES ET RÉSULTATS DE LA VACCINATION PAR L'ANATOXINE

SIMPLICITÉ DE LA TECHNIQUE

Pour la pratique de la vaccination proprement dite, il n'y a aucun mélange à effectuer, il suffit d'injecter dans le tissu cellulaire sous-cutané 0 cc 5, 1 cc ou 1 cc 5 de l'Anatoxine diphtérique fournie par l'Institut Pasteur.

*
**

INNOCUITÉ DE L'ANATOXINE. --- SON CONTRÔLE

Le premier caractère de l'anatoxine, c'est son *atoxicité*. Pour être, selon la définition de RAMON, une anatoxine, le produit dérivé de la toxine doit être avant tout dépourvu de toxicité. L'anatoxine n'est fournie qu'après vérification chez le cobaye : 6 centimètres cubes en injection à un cobaye de 300 gr. ne doivent provoquer aucune manifestation locale ou générale précoce ou tardive d'intoxication diphtérique, ni œdème, ni paralysie.

Des anatoxines conservées depuis 15 mois, soit à la glacière, soit à la température du laboratoire, n'ont retrouvé en aucune façon la moindre toxicité, et, il n'y a pas à craindre des dissociations comme l'on en a signalé quelquefois dans les mélanges toxine-antitoxine.

POUVOIR ANTIGÈNE OU IMMUNISANT --- SA MESURE,
SA CONSERVATION

Comme les expériences de RAMON l'ont montré, le pouvoir flocculant est en relation très étroite avec le pouvoir immunisant ; nous serons donc renseignés sur ce dernier par la réaction de floculation.

La *conservation* du pouvoir antigène a été vérifiée par le fait que Lereboullet et Joannon, Henseval et Nelis obtiennent avec une anatoxine conservée depuis six mois, soit à la glacière, soit au laboratoire, les mêmes résultats que Darré, Loiseau, Laffaille qui avaient utilisé la même anatoxine quelques semaines seulement après sa préparation.

*
**

DURÉE DE L'IMMUNITÉ

Nous ne pouvons pas savoir encore quelle est la durée de l'immunité conférée par l'anatoxine, les applications pratiques de cette méthode sont encore de date trop récente. On sait en effet que ces premières furent faites à l'hôpital Pasteur par Darré, Loiseau et Lafaille, en décembre 1923. Ces auteurs ont constaté tout récemment la persistance appréciable du pouvoir antitoxique du sérum de trois sujets qu'ils avaient vaccinés il y a 13 mois.

Nous espérons que des travaux ultérieurs confirmeront ces résultats

*
**

RÉSULTATS PROPREMENT DITS

Pour mieux apprécier les résultats obtenus avec l'Anatoxine, comparons-les avec ceux de quelques méthodes précédemment employées. Avec les mélanges toxine-antitoxine, 80 % des enfants ayant reçu 3 injections sont immunisés au bout de 3 à 6 mois (PARK-1922).

Avec les vaccins hyperneutralisés (J. Renault et P. P. Lévy), 80 à 90 % des sujets sont immunisés de 2 à 6 mois.

Tandis qu'avec l'Anatoxine 95 % (en moyenne) des sujets sont immunisés au bout de six semaines.

Toutes les observations recueillies par ces différents auteurs montrent combien est rapidement obtenue l'immunisation.

DARRÉ, ROUBINOVITCH, LOISEAU, LAFAILLE obtiennent 88,7 % d'immunisés en 5 à 6 semaines --- 98,8 % en 8 semaines ;

ZOELLER obtient après 6 semaines 100 % d'immunisés ;

LEREBOULLET et JOANNON obtiennent 100 % d'immunisés en deux mois ;

HENSEVAL et NELIS, 93,7 % en 35 jours.

Tous ces pourcentages ont été établis après plusieurs injections mais il existe parfois dès la première injection et très rapidement un état d'immunité, comme le prouve le cas signalé par ZOELLER : il s'agit d'un soldat qui avait présenté une intradermo-réaction très nette, on lui fit une injection d'Anatoxine, 10 jours après il contracte une angine diphtérique, il ne reçoit aucune injection de sérum, au bout de quarante-huit heures il était guéri et ne présenta aucun accident tardif.

En plus de la rapidité (10 jours seulement), avec laquelle s'établit l'immunité, cette observation semble montrer qu'une « immunité générale peut précéder l'immunité locale », comme l'a fait remarquer L. MARTIN.

EN RÉSUMÉ, on peut (avec deux injections d'anatoxine, la première de 0 centimètre cube 5, la seconde de 1 centimètre cube, faites à une vingtaine de jours d'intervalle) obtenir, en 5 à 6 semaines chez 88 à 95 % des enfants et en deux mois (avec trois injections, 0 centimètre cube 5, 1 cc, 1 cc 5), chez 98 à 100 %, le degré d'immunité indiqué par la transformation d'une réaction de Schick positive en une réaction de Schick négative.

EMPLOI DE L'ANATOXINE POUR LA PRÔPHYLAXIE

- - - - -

Les différents travaux que nous avons analysés montrent le rôle immunisant de l'anatoxine et partant l'utilité de son emploi à titre prophylactique. Bien que la période qui nous sépare des premières applications à l'homme soit relativement courte les résultats obtenus seront confirmés, nous l'espérons, par des travaux ultérieurs et permettront de généraliser l'emploi de l'anatoxine dans la prophylaxie antidiphtérique.

A titre documentaire, nous donnons les résultats inédits d'une vaccination que MM. Loiseau, Laffaille et nous-même avons pratiquée dans un préventorium où s'était déclaré un cas d'angine diphtérique. (Nous ferons remarquer que, pour permettre une vaccination plus rapide, la réaction de Schick ne fut pas pratiquée avant cette vaccination.)

*
**

« A la suite d'un cas d'angine diphtérique survenu au préventorium de Cauteleu (Seine-Inférieure), le D^r Ott, inspecteur des services d'Hygiène de la Seine-Inférieure, et le D^r Angeli, directeur du préventorium, nous ont demandé de pratiquer la vaccination antidiphtérique de tous les enfants de cet établissement.

Grâce à l'aide et au dévouement du D^r Angeli, directeur ; de M^{lle} Romani, assistante ; du D^r Rousseau, médecin du Bureau d'Hygiène de Rouen, les vaccinations pratiquées par MM. Loiseau, Laffaille et D'Hour furent observées avec le plus grand soin.

Le 3 mai 1924, 186 enfants reçurent une première injection de 0,5 d'anatoxine. A la suite de cette injection, 49 enfants (24 filles, 25 garçons) ont présenté une légère élévation de température, le lendemain de l'injection (37°9 à 39°6, vers 38° pour le plus grand nombre). Cette élévation thermique a persisté chez sept enfants le deuxième jour et chez deux seulement le troisième et le quatrième jours, avec fort empâtement au niveau de l'injection. L'un de ceux-ci, L... Jean, a présenté une forte température jusque vers le sixième jour, avec persistance d'un léger endolorissement local.

Le 19 mai 1924, deuxième vaccination sur 163 enfants ; un certain nombre d'enfants, vaccinés le 3, avaient entre temps quitté le préventorium ; 94 sujets (54 filles et 40 garçons) présentent une légère élévation de température, le lendemain de l'injection, qui persiste jusqu'au troisième jour chez 9 enfants (4 filles et 5 garçons). Une seule enfant a fait une forte réaction locale après cette deuxième injection. L'enfant ayant présenté une élévation de température prolongée, lors de la première vaccination, n'a pas reçu la deuxième injection. Afin de constater les résultats de ces deux premières vaccinations, la réaction de Schick est faite le 11 juin, (23 jours après la deuxième vaccination), sur les 163 sujets ayant reçu deux injections. Les résultats relevés le 17 juin sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Résultats de la réaction de Schick après deux vaccinations

	FAIBLE	FORTE	TOTAL
Garçons : 94	15 (15,9 o/o)	10 (10,6 o/o)	25 (26,5 o/o)
Filles : 69	2 (4,34 o/o)	4 (5,70 o/o)	6 (10,1 o/o)
163	17 (10,4 o/o)	14 (8,5 o/o)	31 (19, o/o)

Après deux vaccinations avec l'antoxine (0,5 et 1 cc), 19 % des sujets ont encore un Schick positif (prédominance très nette des réactions faibles), 132 enfants (63 filles, 69 garçons) (1), soit 80 % sont immunisés, ce chiffre comprend les sujets immunisés avant vaccination non éliminés par une première réaction de Schick ; nous voulions en effet dans cet essai de vaccination d'une collectivité infantine simplifier autant que possible la méthode et réduire l'intervalle entre les deux vaccinations qui ont été faites à quinze jours de distance ; *en 39 jours, 80 % de l'effectif est vacciné.*

Les 31 enfants à Schick positif ont reçu, le 17 juin, une troisième injection de 1 centimètre cube d'anatoxine ; 29 sont éprouvés, le 16 juillet, par la réaction de Schick (deux ont quitté l'établissement), 23 ont une réaction complètement négative, un seul avait une réaction très faiblement positive. Du total : 161 enfants, 132 ayant reçu deux injections, 29 ayant reçu trois injections, 99,4 % *immunisés après 74 jours.* »

Dans un rapport présenté à l'académie de Médecine dans la séance du 24 avril 1924, le Dr Louis MARTIN

(1) Parmi ces garçons se trouve l'enfant L... Jean, n'ayant reçu qu'une seule injection.

exposait ainsi les grandes lignes de l'emploi de l'anatoxine pour la prophylaxie.

« Dans certaines collectivités : les régiments, les
« pensionnats et même les écoles qui pourront être surveil-
« lés, cette vaccination, pratiquée lors de l'apparition des
« premiers cas de diphtérie, permettra d'immuniser les
« sujets et, comme au début d'une épidémie les malades
« sont peu nombreux, il sera possible d'en préserver le
« plus grand nombre et d'éviter la persistance de l'épi-
« démie.

« Dans les régiments où la diphtérie est endémique,
« dans les orphelinats où chaque année on observa la mala-
« die, il sera mieux de pratiquer la vaccination dès l'arri-
« vée des recrues ou dès la rentrée des classes ; l'avenir
« nous fixera sur la meilleure conduite à tenir.

« Avec la vaccination, il est permis d'espérer que l'on
« préservera les collectivités d'une manière définitive,
« sans chercher les porteurs de germes et sans pratiquer
« plus d'une fois l'intradermo-réaction. »

INDICATIONS ET TECHNIQUE DE LA VACCINATION PAR L'ANATOXINE

INDICATIONS

Age. --- Tant pour la facilité de l'immunisation que pour la prophylaxie, il est préférable de vacciner les enfants entre six mois et six ans (1), période pendant laquelle la diphtérie est la plus fréquente et la plus grave.

Indications. --- Tous les sujets présentant une réaction de Schick positive.

Contre-indications. --- Les sujets atteints de maladies aiguës ; les sujets atteints de tuberculose pulmonaire en évolution, les fébricitants.

Réactions. --- Le plus souvent, les réactions sont légères :

Parfois rougeur et douleurs au point où a été faite l'injection.

Elévation de la température (37°5 à 39°). Réactions locale et générale étant souvent dissociées.

(1) Avant 6 ans moins grande sensibilité aux protéines.

TECHNIQUE

Pratiquer d'abord la réaction de Schick

(Sujet réceptif à la diphtérie = réaction positive ;
Sujet réfractaire à la diphtérie = réaction négative).

Rappelons, pour mémoire, que la réaction de Schick consiste dans l'injection intradermique (1), (sous le volume de un dixième de centimètre cube) d'une dilution de toxine diphtérique dont le dixième de centimètre cube correspond au cinquantième de la dose mortelle pour un cobaye de 250 grammes.

Pour que la réaction de Schick ait toute sa valeur, il faut : 1° Que l'injection soit strictement intradermique (petite papule blanchâtre après l'injection réussie).

2° Qu'elle soit accompagnée d'une injection à l'autre bras, d'une même dilution de toxine chauffée au bain-marie trois minutes à 100°, injection qui permet de contrôler les fausses réactions.

Pour vacciner plus rapidement, on peut omettre la réaction de Schick avant la vaccination, comme nous l'avons indiquée (page 62).

VACCINATION PROPREMENT DITE

Injecter dans le tissu cellulaire sous-cutané de l'abdomen (à gauche de préférence) 0 centimètre cube 5 d'ana-

(1) Employer une aiguille fine de 1 c 5 de long, d- 5/10 cm de diamètre et une seringue dont la tige du piston, munie d'un curseur, est graduée en dixièmes.

toxine diphtérique délivrée en ampoules de 2 centimètres cubes par l'Institut Pasteur.

Seconde injection de 1 centimètre cube d'anatoxine, vingt jours après la première.

Epreuve de Schick, vingt jours après cette deuxième injection.

Faire une troisième injection de 1 centimètre cube 5` d'anatoxine aux seuls sujets à réaction de Schick positive.

CONCLUSIONS

De toutes les méthodes de vaccination employées jusqu'à ce jour pour réaliser l'immunité active de l'homme contre la diphtérie (mélanges toxine-antitoxine : (hypo-neutralisés, hyperneutralisés ou neutres) --- toxines diluées), nous retiendrons : pour la plupart, les difficultés de leur préparation et de leur emploi, la lenteur du développement de l'immunité, le pourcentage trop restreint de sujets vaccinés et pour quelques-unes la possibilité d'accidents.

L'anatoxine diphtérique --- produit fixe et défini, qui a perdu toute la toxicité de la toxine diphtérique dont il dérive, qui en possède encore le pouvoir flocculant et en a conservé toutes les propriétés immunisantes --- s'est révélée dans son emploi, après de multiples essais chez l'animal, après des applications déjà nombreuses chez l'enfant et chez l'adulte, comme une méthode efficace d'immunisation active contre la diphtérie.

Par son innocuité, sa stabilité, la facilité de son emploi, la précocité de l'immunité qu'elle confère, le pourcentage très élevé de sujets vaccinés, (sous réserve de la durée

de cette immunité impossible à déterminer à l'heure actuelle), l'anatoxine diphtérique est un procédé de vaccination humaine supérieur à toutes les méthodes d'immunisation employées jusqu'à ce jour et mérite d'être employée dans la prophylaxie antidiphtérique.

Vu, *Le Doyen*,
ROGER.

Vu, *Le Président*,
Léon BERNARD.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie de Paris
APPELL.

BIBLIOGRAPHIE

- H. ALDERSHOFF : Un nouveau moyen de lutte contre la diphtérie. *Tijdschrift voor Sociale Hygiëne*, février 1922, p. 64.
- ANDERSON : The influence of age and temperature upon the potency of diphteria antitoxin. (*Hyg. Lab. U. S. Public Health a. Max. hosp. Serv. Bull. n° 66*, juin 1910, pp, 9-26).
- E. AVIRAGNET, B. WEILL-HALLÉ, P. MARIE : Prophylaxie de la diphtérie, les méthodes et leur application. l'Hôpital, juin 1921.
- E. AVIRAGNET, B. WEILL-HALLÉ, P. MARIE : L'immunité naturelle à l'égard de la diphtérie et la réaction de Schick. *Journal Médical Français*, janvier 1920.
- A. BACHMANN et DE LA BARRERA : Vaccin antidiphtérique. C. R. Société de Biologie --- t. LXXXVII, 1922, 8. IX, p. 1044.

- GARCIA-BANUS : Les bases scientifiques de la Prophylaxie antidiphthérique moderne. *Revue Internationale Hygiène publique*, oct. 1921.
- BEHRING : Ueber ein neues Diphtherieschutzmittel. *Deutsche mediz. Woch.*, 8 mai 1913, p. 873.
- BIEBER : Untersuchungen über die Schutzwirkung des Behringschen Diphtherieschutz mittels. P. A. in der Praxis. (*Deutsche med. Woch. schr.*, 1920, 46, page 1184).
- BIEBER : Aufgaben und Leistungen meines neuen Diphtherieschutz Mittels, (*Berl. Klin. Woch.*, 51 p. 917).
- BLUM J. : Active immunization against diphtheria results in a large childearing institution. *N. York, M. J.* 1918, 107, p. 208.
- BLUM J. : Active immunization against diphtheria in a large Child caring institution. *Am. J. Dis. Child.*, 1920, --- 20 p. 22.
- BOLDIREFF : Essai d'immunisation de l'homme par la Toxine diphthérique et sur l'immunisation active en général, *Rousk Wratch*, n° 39 oct. 1903, p. 1349.
- H. BUSSON et E. LÖWENSTEIN : Ueber Immunisierung mit Diphtherietoxin antitoxine Gemischen. IV Mitteilung. *Centralb. f. Bakter.*, 1, t. LXXXVI, p. 572, 1921.
- CHAS, T. MC, CLINTOCK et S. FERRY : Production of immunity with over-neutralised diphtherie toxin. *Centralb. f. Bakter.*, 1, Origin. t. LIX, 15 juillet 1911, pp. 456-463.
- CALMETTE et MASSOL : Les précipitines du sérum antivenimeux vis à vis du venin du cobra. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1907, pp. 155 à 165.

- H. DARRÉ, LOISEAU et A. LAFAILLE : De l'immunisation antidiphtérique par l'anatoxine diphtérique. *Bull. Soc. Méd. d. Hôp. Paris*, 22 mai 1924.
- DZIERZGOWSKY : Ueber die active Immunisierung des menschen gegen diphterie, 1910. *Zeitsch. f. Immunitätsforsch u. ex. Therap*, 2 Ref. 602.
- H. DARRÉ, LOISEAU et A. LAFAILLE : Hypersensibilité des convalescents de diphtérie à l'anatoxine diphtérique. *Bull. Soc. Méd. d. Hôp. Paris*, 24 juillet 1924.
- A. T. GLENNY et H. J. SÜDMERSEN : Notes on the production of immunity to diphteria toxin. *Journ. of Hyg.*, t. XX, Octobre 1921, p. 176.
- A. T. GLENNY, F. HOPKINS et C. G. POPE : Further notes on modification of diphteria toxin by Formaldehyde. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, juillet 1924.
- A. T. GLENNY, BARBARA et E. HOPKINS : Labor Wellcome Beckenhann. Rent. Diphteria toxoid as an immunising agent. *Brit. Journ. of Exper. Path.* n° 5, t. IV, octobre 1923, pp. 283-288.
- HENSEVAL et NELIS : Recherches sur la vaccination antidiphtérique à l'aide de l'anatoxine. *C. R. Soc. de Biologie*, 29, 1924, p. 902.
- KLEBS E. : Ueber Diphterie. *Verhandl. d. Congr. f. innere Med. Wiesbaden*, 1883, p. 139.
- LEREBoullet, BOULANGER-PILET et M. LELONG : L'anatoxi-réaction de ZOELLER. *Société Médicale des Hôpitaux de Paris*.

- LEREBOULLET et JOANNON : Immunisation antidiphtérique de l'enfant par l'anatoxine diphtérique. Allergie et réaction locale. *Bull. Soc. Med. Hôp. Paris*, 24 juillet 1924.
- LEREBOULLET P. et MARIE P.-L. : Réaction de Schick et prophylaxie de la diphtérie. *Bull. et Mém. Soc. Méd. d. Hôpitaux de Paris*, 45, 460, 1921.
- LOEFFLER F : Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die entstehung der Diphterie beim Menschen bei der Paube und beim Kalbe. 1884, *Mittl. a. d. k. Gondgtsamte*, 2 pp. 421-499.
- LÖWENSTEIN E : Ueber Immunisierung mit atoxischen Toxinen und mit über compensierten Toxin-Antitoxin Mischungen bei Diphtérie. 1914, *Zeitsch. für exper. Path. a. Therap.* 15, p. 279.
- LÖWENSTEIN E. : Ueber Immunisierung mit atoxischen toxinen. *Deutsche Med. Woch.*, 21 juillet 1921, p. 833.
- LOUIS MARTIN : Sur l'immunisation antidiphtérique avec l'anatoxine. *Bull. Académie de Médecine*, 29 avril 1924, t. XCI, n° 18.
- M. NICOLLE, E. CEZARI et E. DEBAINS : Etudes sur la précipitation mutuelle des anticorps et des antigènes. *Ann. Institut Pasteur*, 1920, t. XXXIV, 1^{re} mémoire.
- M. NICOLLE, E. CEZARI et E. DEBAINS : Etudes sur la précipitation mutuelle des anticorps et des antigènes. *Ann. Institut Pasteur*, 1920, t. XXXIV, 2^e mémoire, pp. 149-152.
- M. NICOLLE, E. CEZARI et E. DEBAINS : Sérums antitoxiques. *Ann. Institut Pasteur*, 1920, t. XXXIV, 3^e mémoire, pp. 596-599.

- M. NICOLLE, E. CEZARI et E. DEBAINS : Sérums anticellulaires. Valeur pratique de la réaction précipitante. *Ann. Institut Pasteur*, 1920, t. XXXIV, pp. 702-714.
- OPITZ H. : Zur Frage der Aktiven Immunisierung gegen Diphtherie. *Berl. Klin. Woch.*, 1920, 57, p. 42.
- OPITZ H. : Zur Frage der Aktiven Immunisierung gegen Diphtherie beim Menschen. *Jahrbuch. f. Kinderheilk.*, 1920, 92, p. 189.
- PARK W. H. : Persistence of immunity following toxin-antitoxin injection. *Proc. Soc. Experim. biol. and Medic.*, 1918, 15, 100.
- PARK W. H. : The Schick Test and the immunization of children against diphtheria. *Med. Rec.* 1919, 15, 100.
- PARK W. H. Active immunization against diphtheria with toxin-antitoxin. *Month. Bull. Dep. Health, City N. Y.* 12, 25.
- PARK W. H. : Toxin-antitoxen immunization against diphtheria. *J. America, Med Ass.* 1922, 79, 1584.
- PARK W. H. et ZINGHER : Immunity results obtained from the use of diphtheria toxin-antitoxin mixtures and the use of the Schick test. *Med. Rec.* 1916, 90, 7, 41.
- PARK W. H. et ZINGHER : Duration of Antitoxic immunity in man and animal after diphtheria toxin-antitoxin injections. *Arc. Pediat.* 1917, 34, 278.
- PARK W. H. et ZINGHER : Immunization of the infant against diphtheria. 1918, *Med. Rec.* 94. 615.
- PARK, ZINGHER et SEROTA : Action immunization in diphtheria and treatment by toxin-antitoxin. *J. Am. Med. Ass.* 1914, 859.

- PARK W. H. : Active immunization in diphtheria by toxin-antitoxin mixture. *A. J. obst.* 1913, 1213.
- PARK W. H. : Further studies on active immunization against diphtheria. *Tr. Ass. Am. Physicians*, 1918, 33, 55.
- PARK W. H. : Immunization of the infant against diphtheria. *N. York, M. L.* 1918, 221.
- PARK W. H. : Toxin-Antitoxin immunization against diphtheria. *Journ. Am. Med. Assoc.* 1922, p. 1584.
- RAMON : Flocculation dans un mélange neutre de toxine antitoxine diphtérique. *Soc. Biologie*, 25 mars 1922.
- RAMON : Sur une technique de titrage in vitro du sérum antidiphtérique. *Soc. Biologie*, 1^{er} avril 1922.
- RAMON : A propos du titrage in vitro du sérum antidiphtérique. *Soc. Biologie*, 29 avril 1922.
- RAMON : Sur la concentration du sérum antidiphtérique, et l'isolement de l'antitoxine. *Soc. de Biologie*, 27 janvier 1923.
- RAMON : Pouvoir flocculant et pouvoir toxique de la toxine diphtérique. *Soc. Biologie*, 2 juin 1923.
- RAMON : La flocculation dans les mélanges de toxines et sérum antidiphtérique. *Ann. de l'Institut Pasteur*, Déc. 1923, p. 1001.
- RAMON : Sur la toxine et sur l'anatoxine diphtérique pouvoir flocculant et propriétés immunisantes. *Ann. Institut Pasteur*, janvier 1924, p. 1.
- RAMON : Sur le pouvoir flocculant et sur les propriétés immunisantes d'une toxine diphtérique rendue anatoxique (anatoxine). Note présentée par M. Roux, *Acad. des Sciences*, 1^o décembre 1923.

- RAMON : Les Anatoxines, *Paris Médical*, 6 décembre 1924.
- J. RENAULT et P. P. LEVY : Sur un nouveau procédé de vaccination antidiphthérique. *Bull. Académie Médecine*, 16 mai 1922, *Presse Médicale*, 15 juill. 1922.
- J. RENAULT et P. P. LEVY : L'immunisation antidiphthérique par le vaccin T + A hyperneutralisé. *Bull. Acad. Méd.*, 26 février 1924.
- J. RENAULT et P. P. LEVY : La vaccination antidiphthérique. *Annales de Médecine*, octobre 1924.
- P. ROHMER et R. LEVY : L'immunisation active contre la diphthérie. Ses méthodes, ses résultats. *Arch. Méd. Enf.* n° 10, octobre 1921.
- P. ROHMER et R. LEVY : La vaccination antidiphthérique. *Archives de médecine des enfants*, janvier 1923.
- ROUBINOWITCH, LOISEAU et LAFFAILLE : Immunisation antidiphthérique chez l'enfant avec l'anatoxine diphthérique. *Bull. Soc. Méd. Hôp. de Paris*, 29 mai 1924.
- ROUX : Sur les sérums antitoxiques. *Congrès international d'hyg. et de démog.*, Budapest 1894.
- ROUX : Sur la sérothérapie de la diphthérie. *Congr. Intern. d'hygiène et de démog.*, Budapest 1894.
- ROUX et MARTIN L. : Contribution à l'étude de la diphthérie (sérum-thérapie). *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1894, 8, 609.
- ROUX, MARTIN L. et CHAILLOU A. : Trois cents cas de diphthérie traités par le sérum antidiphthérique. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1894, 8, 640.
- ROUX et VAILLARD : Contribution à l'étude du tétanos, prévention et traitement par le sérum antitoxique. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1893, 7, 65.

ROUX et YERSIN : Contribution à l'étude de la diphtérie.
Ann. de l'Institut Pasteur. 1888, 7, 629.

ROUX et YERSIN : Contribution à l'étude de la diphtérie.
(2^e mémoire), *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1889, 3.273.

ROUX et YERSIN : Contribution à l'étude de la diphtérie,
3^e mémoire), *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1890, 4, 385.

SCHREIBER : Zur Prophylaxie und Therapie der Diphtherie. *Deutsche Mediz. Woch.* 15 mai 1913, p. 928.

SCHICK B. : Die Diphtherietoxin-Hautreaktion des Menschen als Vorprobe der Prophylaktischen Diphtherieheilseruminjektion. *München Med. Woch.* 1913, 60, 2608.

SMITH Th. : Active immunity produced by so-called balanced or neutral mixtures of diphtheria toxin and anti-toxin. *J. Exper. M.* 1909, 11, pp. 241-256.

B. WEILL-HALLÉ et H. DE LAULERIE : La prophylaxie antidiphtérique par la vaccination. *Journal Médical Français*, janvier 1920.

W. ZANGMEISTER : Dritte Mitteilung über v. Behring's neues Diphtherie schützmittel. *Deutsche Mediz. Woch.* 22 mai 1913, p. 979.

ZINGHER : Réparation and method of using toxin-anti-toxin mixtures for active immunization against diphtheria. *Journal Infect. Dis.*, 1917, 21, p. 493.

ZINGHER : Active immunization of infants against diphtheria. *Am. J. Dis. Child*, 1918, 16, pp. 83-102.

ZINGHER : The active immunization of children under eighteen months of age with diphtheria toxin-anti-toxin. *Arch. pediat.* 35, p. 489-494.

ZINGHER : Results of active immunization with toxin-antitoxin in the public schools of New-York City. *J. Am. M. A.* 1922, 78, p. 1945.

ZINGHER : Diphteria prevention among children of pre-school age in the boroughs of Manhattan and the Bronx in New-York. *J. A. M. A.* 1923, 89, p. 456.

ZOELLER : La vaccination par l'anatoxine diphtérique chez l'adulte. *Bull. Soc. méd. d. Hôp. Paris*, 15 mai 1924.

ZOELLER : L'anatoxi-réaction ou protéino-réaction révélatrice de l'allergie diphtérique. *Bull. Soc. méd. d. Hôp. Paris*, 10 juillet 1924.
